

Therapeutical effect of *Gynura formosana* alcohol extract on Nonalcoholic fatty liver disease in rats

WAN Yun, XU Wei, LIU Li-ya, ZHANG Yu-chen, PENG Jun, HONG Zhen-feng

Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou Fujian, China

Received: Apr 04, 2014

Accepted: Apr 18, 2014

Published: Jul 22, 2014

DOI: 10.14725/gjicmwm.v2n2a364

URL: <http://dx.doi.org/10.14725/gjicmwm.v2n2a364>

This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Abstract

Objective: To discuss the therapeutical effect of *Gynura formosana* (GF) alcohol extract on Nonalcoholic fatty liver disease induced by high-fat diet. **Methods:** The rat model was established by high fat diet, then rats were randomized into five groups, a normal control group, GF (low, middle and high dose) groups and a model control group. After four weeks with the treatment of GF alcohol extract, the pathologic histology changes of liver tissue were observed. The levers of serum TG, TC, AST and ALT were detected. **Results:** Compared with the normal group, the content of serum TG, TC, AST and ALT in the model group is higher than in the normal group obviously ($P < 0.05$). The liver weight and visceral fat pad in the GF treatment group is significantly lower than the model group ($P < 0.05$). In addition, GF can reduce the degree of liver steatosis and the levers of serum TG, TC, ALT and AST. **Conclusion:** GF has the rapeutical effect on Nonalcoholic fatty liver disease and could obviously improve blood lipid and hepatic steatosis of nonalcoholic fatty liver rats.

Key words

Gynura formosana; Nonalcoholic fatty liver disease; Animal model

白凤菜醇提物对非酒精性脂肪肝大鼠的治疗作用*

万芸, 徐伟, 刘丽雅, 张毓宸, 彭军, 洪振丰

福建中医药大学, 福建福州, 中国

通讯作者: 洪振丰 Email: zfhong1953@163.com

*基金项目: 福建省科技厅计划项目(2010YZ0001-1)

【摘要】目的 探讨白凤菜醇提物对高脂饲料诱导的非酒精性脂肪肝 (NAFLD) 模型大鼠的治疗效果。方法 采用高脂饲料建立大鼠 NAFLD 模型, 随机分为正常对照组、白凤菜低剂量组、白凤菜中剂量组、白凤菜高剂量组和模型对照组。白凤菜醇提物治疗 4 周后取肝组织用于病理组织学观察, 取血清检测甘油三酯 (TG)、胆固醇 (TC)、天冬氨酸转移酶 (AST)、丙氨酸转移酶 (ALT) 等相关生化指标。结果 模型组大鼠血清 TG、TC、ALT 及 AST 含量显著高于对照组 ($P < 0.05$); 白凤菜组肝湿重、内脏脂肪垫显著低于对照组 ($P < 0.05$), 肝细胞脂肪变性程度较模型组明显减轻。此外, 白凤菜能明显降低非酒精性脂肪肝模型大鼠血脂 (TG、TC)、ALT 及 AST 水平。结论 白凤菜对非酒精性脂肪肝有治疗作用, 可改善非酒精性脂肪肝大鼠的血脂紊乱及脂肪变性。

【关键词】白凤菜; 非酒精性脂肪肝; 动物模型

非酒精性脂肪肝 (NAFLD) 是一种无过量饮酒史, 由多种原因导致的以肝细胞脂肪变性和脂质沉积为特征的临床病理综合征, 主要包括单纯性脂肪肝及脂肪性肝炎, 后者可以进展为肝纤维化和肝硬化^[1-2]。流行病学调查显示 NAFLD 已成为我国常见的慢性肝病之一, 在上海、广州和香港等发达地区成人患病率达

10%~25%，且渐趋低龄化^[3]。目前现代医学对 NAFLD 的治疗缺乏特效的治疗药物，因此寻找更好地阻断 NAFLD 进展或治疗此疾病、改善患者预后的药物已成为研究的热点。白凤菜又名肝炎草、白子菜，为菊科三七草属植物，是一种保健药膳珍稀蔬菜，具有清热凉血、排毒、散瘀消肿等功效^[4]。在闽南漳州地区白凤菜广为食用，为验证其抗炎、降脂、保肝作用开展了初步的研究，现报道如下。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验动物 健康 SPF 级雄性 Spague-Dawley (SD) 大鼠 62 只，体重 $210 \pm 10\text{g}$ ，由上海市西普尔-必凯实验动物有限公司提供（合格证号：2007000531494，许可证号：SCXK（沪）2007-0005）。

1.1.2 实验药品与试剂 白凤菜：采自福建省漳州市区，经福建中医药大学药学院中药鉴定教研室鉴定为菊科三七草属植物 *Gynura formosana* Kitam。取 1kg 白凤菜，用醇提法制得干燥粉末，蒸馏水稀释到一定浓度后备用；总甘油三酯（TG）、总胆固醇（TC）、丙氨酸氨基转移酶（ALT）、天门冬氨酸转移酶（AST）高密度脂蛋白（HDL-C）、低密度脂蛋白（LDL-C）试剂盒购于南京建成工程研究所；高脂饲料（猪油 10%、胆固醇 2%、猪胆盐 0.7%、基础饲料、87.3%）由福州闽侯竹岐动物服务中心提供；普通饲料由福建中医药大学实验动物中心提供。

1.1.3 实验仪器 电子天平（上海奥豪斯仪器有限公司），BX51T-PHD-J11 显微镜（日本 OLYMPUS 公司），低速离心机（美国 Thermo 公司），生物组织石蜡包埋机（湖北孝感亚光医用电子技术有限公司），生物组织自动脱水机（亚光医用电子技术有限公司），全自动石蜡切片机（德国徕卡仪器有限公司），BS-120 全自动生化分析仪（深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司）。

1.2 实验方法

1.2.1 动物分组及模型建立 选择 SPF 级 SD 雄性大鼠 62 只，适应性喂养 1 周后，按体重随机分成 2 组。正常对照组（16 只）给予基础饲料饲养，高脂组（56 只）以高脂饲料喂养，动物自由进食、饮水，明暗交替各 12h，每周称量体重一次。实验 6 周后分别从正常对照组和高脂饮食组随机抽取 6 只处死，取肝脏做组织病理切片；肝脏组织病理学观察，结果表明，模型组大鼠肝脏脂肪变严重，单位面积脂变已超过 2/3，肝组织呈弥漫性大泡性重度脂肪变性，肝细胞点状坏死及肝组织轻度纤维化增生，提示非酒精性脂肪肝模型建立成功^[5]。确定模型成功后，高脂组剩余大鼠随机分为模型对照组、白凤菜低剂量组、白凤菜中剂量组和白凤菜高剂量组，每组 10 只。从第 7 周开始，各组大鼠，除空白对照组和模型组灌服生理盐水外，其余各组给予不同剂量的白凤菜醇提物（低剂量 4.375g/kg ；中剂量 8.75g/kg ；高剂量 17.5g/kg ）。于 10 周末隔夜禁食 12h，次日经戊巴比妥钠 40mg/kg 腹腔内麻醉后，腹主动脉法取血，于 3000r/min ，离心 15min，分离血清， -80°C 冰箱保存待检。

1.2.2 观察项目及检测方法 观察大鼠活动度、毛发光泽，食欲及死亡等情况，每周称量体重并记录。摘取肝脏和内脏脂肪垫，称重拍照观察各组大鼠肝脏大体形态后，取肝右叶部分用 4% 多聚甲醛溶液固定，常规石蜡包埋，用于病理切片，常规 HE 染色，光镜观察并参照中华肝脏病学会脂肪肝及酒精性肝病学会制定的 NAFLD 诊断标准评价组织脂肪变性、炎症和坏死程度。全自动生化分析仪测定血清丙氨酸氨基转移酶（ALT）、天门冬氨酸转移酶（AST）、胆固醇（TC）、甘油三酯（TG）、高密度脂蛋白（HDL-C）和低密度脂蛋白（LDL-C）的含量。

1.3 统计学处理 所有数据均使用 SPSS18.0 软件包进行分析，结果用均数±标准差（ $\bar{x} \pm s$ ）表示，多组数据之间比较使用单因素方差分析，两组数据之间比较采用 t 检验；计数资料用秩和检验。 $P < 0.05$ 为差异有显著性。

2 结果

2.1 白凤菜醇提物对 NAFLD 大鼠肝脏大体形态的影响 对照组大鼠肝脏外观呈鲜红色，大小正常，形状规则，质地柔软，表面光滑；模型组大鼠肝脏体积明显增大，呈奶黄色，边缘钝而厚，表面有弥漫性细颗粒样隆起，切面油腻，质地较脆，局部有黄白色变性灶；治疗组肝脏体积较正常略增大，颜色较模型组偏红，接近正常色，切面无明显油腻。结果见图 1。



图 1 各组大鼠肝脏组织大体形态

2.2 白凤菜醇提物对 NAFLD 大鼠肝脏组织病理学的影响 对照组大鼠肝小叶结构完整、细胞轮廓清晰，中央静脉大而壁薄，肝索呈放射状排列，无肝细胞脂肪变性及炎症细胞浸润；模型组肝组织胞浆内可见广泛弥漫分布的大脂肪空泡，肝细胞体积增大，肝索排列紊乱，肝窦狭窄，细胞核被挤向一边，病变以中央静脉周围最为明显，有炎性细胞浸润，累及肝小叶，主要为大泡性脂肪变性；白凤菜治疗组大鼠肝细胞脂肪变性数量及程度较模型组明显减轻，仅高倍镜下可见肝细胞有小空泡样变。结果见图 2。

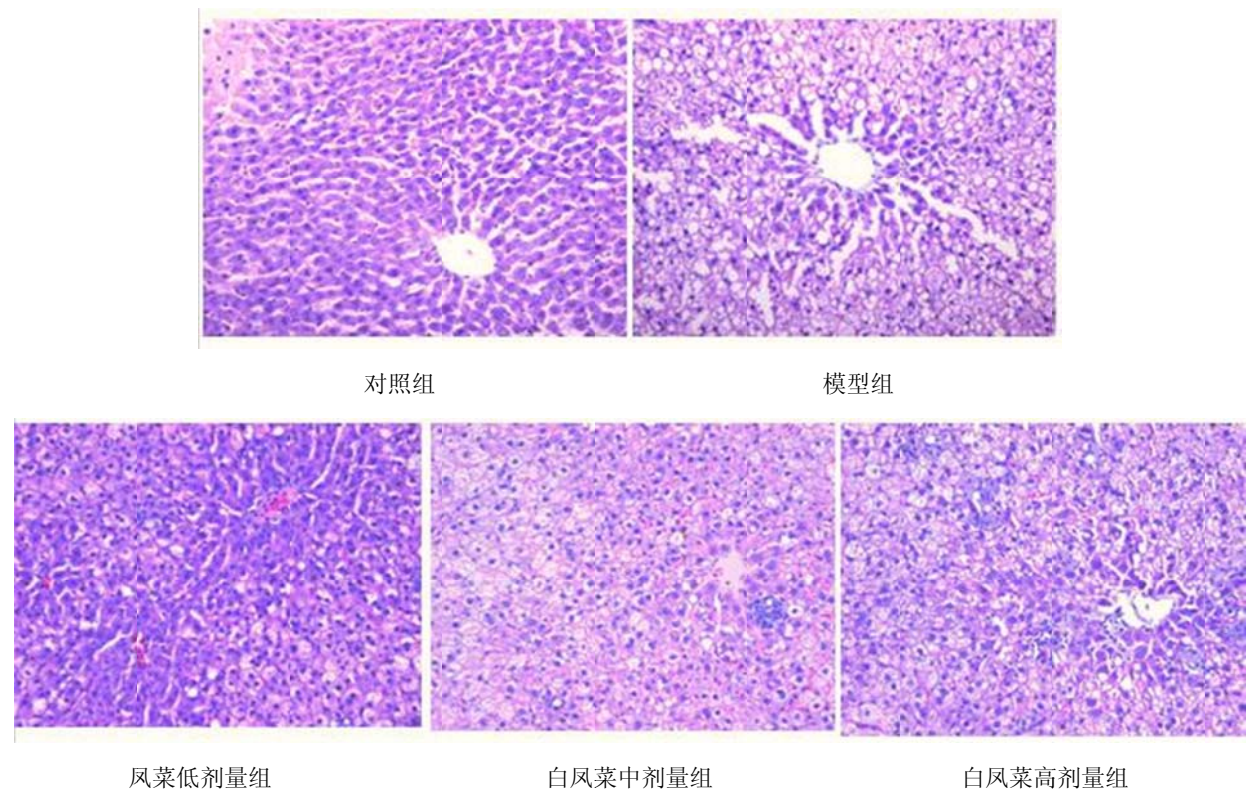


图 1 各组大鼠肝脏组织病理学的影响（40×，HE 染色）

2.3 白凤菜醇提物对 NAFLD 大鼠肝重、内脏脂肪垫的影响 模型组大鼠肝重较正常对照组明显升高，差异有统计学意义（ $P<0.01$ ）；白凤菜低剂量组与模型组无差异，中剂量和高剂量与模型组差异有统计学意义（ $P<0.05$ ）；模型组大鼠内脏脂肪垫（肾周和附睾）较正常对照组重量明显升高，白凤菜各剂量组均能明显减轻内脏脂肪垫重量，差异有统计学意义（ $P<0.05$ ），但各组之间差异无统计学意义（ $P>0.05$ ）。结果见表 1。

表 1 白凤菜对 NAFLD 大鼠肝重、内脏脂肪垫的影响（ $\bar{x} \pm S$ ，n=10）

| 组别 | 剂量（g/kg） | 肝重（g） | 内脏脂肪垫（g） |
|---------|----------|-------------------------|-------------------------|
| 对照组 | | 12.88±2.25 | 16.37±4.69 |
| 模型组 | | 23.90±3.52 [#] | 19.84±5.94 [#] |
| 白凤菜低剂量组 | 4.375 | 21.70±2.58 [*] | 13.27±3.71 [*] |
| 白凤菜中剂量组 | 8.75 | 21.00±2.25 [*] | 13.64±2.98 [*] |
| 白凤菜高剂量组 | 17.5 | 21.18±1.38 [*] | 13.66±3.48 [*] |

注：与对照组比较，^{*} $P<0.05$ ；与模型组比较，[#] $P<0.05$

2.4 白凤菜醇提物对 NAFLD 大鼠血清生化指标的影响 模型组大鼠血清 TG、TC、ALT 及 AST 含量显著高于对照组（ $P<0.01$ ）。白凤菜治疗组大鼠血清 TG、ALT、AST 含量显著低于模型组（ $P<0.05$ ）；白凤菜中剂量组大鼠血清 TC 含量低于模型组（ $P<0.05$ ），低剂量和高剂量组与模型组之间无明显差别（ $P>0.05$ ），3 个用药组之间量效关系不显著。结果见表 2、3。此外，模型组大鼠的 LDL-C 和 HDL-C 与对照组相比 LDL-C 显著上升，而 HDL-C 下降明显，均具有统计意义（ $P<0.01$ ）。白凤菜各剂量组的 HDL-C 与模型组比较无

明显统计学差异, LDL-C 除中剂量与模型组比较显著降低外, 其余各组与模型组比较无明显差异 ($P>0.05$) 与模型组无明显统计学差异。结果见表 4。

表 2 白凤菜对 NAFLD 大鼠血清 TG、TC 的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

| 组别 | 剂量 (g/kg) | TG (mmol/L) | TC (mmol/L) |
|---------|-----------|------------------------|------------------------|
| 对照组 | | 0.54±0.08 | 1.79±0.11 |
| 模型组 | | 0.85±0.15 [#] | 2.11±0.22 [#] |
| 白凤菜低剂量组 | 4.375 | 0.67±0.22 [*] | 2.40±0.08 |
| 白凤菜中剂量组 | 4.375 | 0.51±0.13 [*] | 1.84±0.21 [*] |
| 白凤菜高剂量组 | 17.5 | 0.54±0.10 [*] | 2.12±0.25 |

注: 与对照组比较, ^{*} $P<0.05$; 与模型组比较, [#] $P<0.05$

表 3 白凤菜对 NAFLD 大鼠血清 ALT、AST 的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

| 组别 | 剂量 (g/kg) | ALT (U/L) | AST (U/L) |
|---------|-----------|--------------------------|---------------------------|
| 对照组 | | 30.69±4.33 | 62.00±13.15 [#] |
| 模型组 | | 62.00±13.15 [#] | 268.55±44.71 [#] |
| 白凤菜低剂量组 | 4.375 | 31.11±8.07 [*] | 225.00±35.77 [*] |
| 白凤菜中剂量组 | 8.75 | 27.43±13.93 [*] | 210.88±42.86 [*] |
| 白凤菜高剂量组 | 17.5 | 37.00±7.23 [*] | 190.83±18.06 [*] |

注: 与对照组比较, ^{*} $P<0.05$; 与模型组比较, [#] $P<0.05$

表 4 白凤菜对 NAFLD 大鼠 HDL-C、LDL-C 含量的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

| 组别 | 剂量 (g/kg) | HDL-C (mmol/L) | LDL-C (mmol/L) |
|---------|-----------|------------------------|------------------------|
| 对照组 | | 0.79±0.09 | 0.95±0.13 |
| 模型组 | | 0.52±0.06 [#] | 1.78±0.14 [#] |
| 白凤菜低剂量组 | 4.375 | 0.49±0.05 | 1.83±0.10 |
| 白凤菜中剂量组 | 8.75 | 0.46±0.07 | 1.27±0.27 [*] |
| 白凤菜高剂量组 | 17.5 | 0.55±0.07 | 1.53±0.22 [*] |

注: 与对照组比较, ^{*} $P<0.05$; 与模型组比较, [#] $P<0.05$

3 讨论

随着人们生活水平的提高, 饮食结构和生活方式的变化, 非酒精性脂肪性肝 (NAFLD) 的发病率正在逐年上升, 且发病年轻化趋势明显, 已成为全球性公共健康问题, 在中国发病率也迅速上升^[6]。目前, NAFLD 的发病机制仍不明确, Day 和 James 共同提出的“二次打击”学说为阐明该疾病发生机制的主要理论^[7]。NAFLD 的发病主要与脂质代谢紊乱、胰岛素抵抗、脂质过氧化、炎性细胞因子的释放等方面有关, NAFLD 患者的肝脏自身合成脂肪酸增加是导致脂肪酸蓄积的主要原因之一, 富余脂质特别是 TG 的沉积, 是 NAFLD 形成、发展的先决条件。到目前为止, 国内外并无治疗 NAFLD 的特效方法, 其治疗主要包括改善生活方式、改善胰岛素的抵抗、调整血脂紊乱和针对代谢综合征进行治疗等多种综合性措施^[8]。此外, 临床应用的西药主要是使用调血脂药、抗氧化药、改善胰岛素抵抗的药物等, 作用还比较单一, 且不良反应也较多。如贝特类药物具有降脂、抗炎、改善血管内皮功能和增强胰岛素敏感性等作用, 但是对肝脏具有一定的损伤性^[9]。

近年来对天然植物药的研究在不断深入, 且由于其疗效确切且副作用小越来越得到人们的青睐。本实验采用高脂饮食 10 周成功建立了 SD 大鼠脂肪肝动物模型, 肝组织病理学结果显示肝组织出现严重的脂肪

变性, 并伴有炎症浸润和组织坏死。白凤菜醇提物干预治疗 4 周后, 可在一定程度上防止肝脏脂肪过度沉积, 改善肝功能及肝细胞脂肪变性、减轻肝组织的炎症反应, 具有显著抑制高脂饮食引起的实验大鼠脂肪肝形成的作用。白凤菜在中国广泛食用, 有丰富的自然资源, 其防治脂肪肝的作用值得进一步开发研究。

【参考文献】

- [1] 中华医学会肝病学分会脂肪肝和酒精性肝病学组.非酒精性脂肪性肝病诊疗指南[J].中华肝脏病杂志, 2010,18(3):163-166.
<http://dx.doi.org/10.3969/j.issn.1674-7380.2010.04.013>
- [2] Day CP. Non—alcoholic fatty liver disease: a massive problem[J]. Clin Med, 2011,11(2):176-178.
<http://dx.doi.org/10.7861/clinmedicine.11-2-176>
- [3] 朱科伦,朱郁炯,曾文铤,等.非酒精性脂肪肝流行病学研究进展[J].广州医药, 2011,42(2):1-2.
- [4] 汪洪江,李维林,任冰如,等.白凤菜插杆繁殖技术研究[J].中国野生植物资源, 2010,6(3):62-65.
- [5] 范建高,曾民德.脂肪性肝病[M].北京:人民卫生出版社, 2005,147-152.
- [6] 黄春明,李瑜元,周永健,等.非酒精性脂肪性肝病流行病学 4 年对照研究[J].中华消化杂志, 2010,8(30):512-517.
<http://dx.doi.org/10.3760/cma.j.issn.0254-1432.2010.08.003>
- [7] Day CP, James OF. Steatohepatitis: a tale of two“hits”[J]. Gastroenterology, 1998,114(4):842-845.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0016-5085\(98\)70599-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0016-5085(98)70599-2)
- [8] 张金颖,曾斌芳.脂肪肝的中西医治疗进展[J].新疆中医药, 2007,25(06):66-68.
<http://dx.doi.org/10.3969/j.issn.1009-3931.2007.06.040>
- [9] 张丹瑛,沈锡中.非酒精性脂肪性肝病药物治疗进展及认识[J].世界临床药物, 2013,34(8):449-452.